Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin
Direktor: o. Prof. Dr. Zeiss

Fluoreszenzmikroskopische Blutuntersuchungen bei experimenteller Bleivergiftung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Medizinischen
Doktorgrades an der Friedrich-
Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von
Elisabeth Lemke
aus Berlin

Tag der Promotion: 16. September 1941

Buchdruckerei Hanns Michel, Berlin NW 7, Marienstraße 11

M 221

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

*

Dekan: Prof. Dr. Kreuz
Referent: Prof. Dr. Pesch

Bei der Frühdiagnose der Bleierkrankung stützt man sich im wesentlichen auf folgende Symptome: Bleikolorit — Bleisaum — Hämatoporphyrie — Basophilie. Von diesen vier Symptomen ist am schwierigsten die Basophilie zu diagnostizieren. Da alle bisher üblichen Methoden zum Nachweis der Basophilie gewissen Bedenken unterliegen, lag es nahe, die Fluoreszenzmikroskopie hier heranzuziehen. Hatte diese doch durch die Darstellung der Tuberkelbazillen (Hagemann), Leprabazillen (Hagemann), Diphtheriebazillen (Keller), Virusarten (Hagemann), Bakteriensporen (Pesch) sowie auf dem Gebiete der Hämatologie durch den Nachweis porphyrinhaltiger Erythrozyten (Keller und Seggel) und die färberische Darstellung der Blutblättchen (Keller) zu bemerkenswerten und praktisch wichtigen Resultaten geführt.

Obwohl nun die Auswertung der bei der Basophilie vorliegenden getüpfelten Erythrozyten für die Diagnose der Bleierkrankung allein nicht ausreicht, so ist ohne Zweifel in dem färberischen Nachweis punktierter Erythrozyten doch ein wertvolles Hilfsmittel für die Diagnose der Bleierkrankung gegeben.

Es sei gestattet, hier zunächst einige Bemerkungen über das Prinzip der Fluoreszenzmikroskopie und die von uns hierbei angewandte Apparatur vorauszuschicken. Bestimmte Gewebe und Stoffe oder Bakterien sind, wie Haitinger gezeigt hat, befähigt, fluoreszierende Farbstoffe elektiv aufzunehmen. Beim Auftreffen von kurzwelligem unsichtbarem ultraviolettem Licht auf den in der Materie gespeicherten Fluoreszenzfarbstoff wird dieser zu einer Sekundärstrahlung angeregt. Diese Sekundärstrahlung oder Sekundärfluoreszenz besitzt eine andere Wellenlänge und Brechbarkeit als das UV-Licht. Sie ist sichtbar und kann im Fluoreszenzmikroskop beobachtet werden. Die Art und die Farbe der Fluoreszenz ist abhängig von der chemischen Beschaffenheit des Fluorochroms und von der Fähigkeit der behandelten Materie, fluoreszierende Farbstoffe zu speichern. Unsere fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden mit der Hg.-Fluoreszenzlampe Lux UW, Modell Reichert, vorgenommen. Das Instrument kann kurz wie folgt beschrieben werden.

Der Leuchtkörper, eine UV-Lampe, ist in eine entlüftete Hohlkugel aus Metall eingebaut. Zur besseren Lichtausbeute befindet sich im Innern der Kugel an der Rückwand noch ein Reflektor. An

die Austrittsöffnung des Lampengehäuses wird ein Beleuchtungsstutzen angesetzt. In diesem befindet sich ein Kollektor aus ultraviolett-durchlässigem Glas und eine Irisblende. Außerdem ist noch ein Spezialsperrfilter für rotes Licht vorhanden. Zur Aufnahme der verschiedenen Lichtfilter ist an der Austrittsstelle des Stutzens eine Haltevorrichtung angebracht. Für die Beobachtung oder Untersuchung der Präparate im sichtbaren Licht dient ein Mattweiß-Filter. Um die Fluoreszenzerscheinungen zu beobachten, werden Wood'sche Filter verschiedener Dicke und Durchlässigkeit eingeschaltet. Das Lampengehäuse ist durch einen Tragarm an einem Stativ befestigt und kann dadurch in beliebiger Richtung bewegt werden. Die Verbindung des Mikroskops mit der UV-Lampe erfolgt durch Winkelanschläge. Es ist möglich, jedes beliebige Mikroskop zu verwenden, jedoch müssen der Mikroskopierspiegel und der Kondensor aus Glas bestehen, das für ultraviolettes Licht durchlässig ist und nicht fluoresziert. Wir benutzten für unsere Versuche das Reichert-Sonderobjektiv fl. od., dessen Gläser nicht fluoreszieren. Um die Augen des Beobachters vor UV-Strahlen zu schützen, wird vor die Austrittsstelle des Okulars ein Sperrfilter gesetzt, welches die letzten Reste des ultravioletten Lichtes zurückhält.

Zur Beschaffung von Untersuchungsmaterial für die fluoreszenzmikroskopische Prüfung der basophilen Körnelung wurde im Vorversuch einer ersten Gruppe von 4 Meerschweinchen, Kaninchen und weißen Mäusen Bleiweiß, in Erdnußöl geschüttelt, als gleichmäßige weiße Suspension in verschiedener Konzentration subkutan injiziert. Je einem Tier wurde zur Kontrolle Erdnußöl allein injiziert. In gleicher Weise spritzten wir in einer zweiten Versuchsreihe Mennige als gleichmäßige rote Suspension. Dazu hatten wir auch hier wieder je ein Kontrolltier, dem Erdnußöl allein injiziert wurde. In der dritten und vierten Versuchsreihe wurden Tiere mit verschiedenen Mengen Bleiweiß und Mennige gefüttert, wobei wir je ein Tier zur Kontrolle unbehandelt ließen.

Regelmäßig durchgeführte Blutuntersuchungen ergaben, daß die Meerschweinchen und Kaninchen nach etwa 10—14 Tagen mit Bildung von punktierten Erythrozyten reagierten. Die Mäuse dagegen zeigten sich gegen die Bleieinwirkung ziemlich resistent. Erst nach etwa vier Wochen wiesen die Blutausstriche vereinzelt Körnelung auf. Deshalb sahen wir dann davon ab, Mäuse noch weiterhin für unsere experimentellen Untersuchungen zu verwenden. Am größten war die Zahl der pathologisch veränderten Blutkörperchen bei den Meerschweinchen. Jugendliche Tiere erwiesen sich für unseren Zweck als ungeeignet, da in ihrem Blut schon normalerweise getüpfelte Erythrozyten vorhanden sind.

Die ersten Versuche zur Darstellung der basophil sich färbenden granulierten Substanz wurden nach den bisher üblichen Metho-

den durchgeführt, um deren Leistungsfähigkeit noch einmal zu überprüfen, und um sie dann später mit unseren fluoreszenzmikroskopischen Färbungen zu vergleichen.

Die von uns benutzten Färbungen waren folgende:

1. Giemsa.
2. Giemsa mit Farbwechsel im „dicken Tropfen".
3. Löfflers Methylenblau.
4. Borax-Methylenblau.
5. Manson-Schwarz (abgeänderte Manson-Färbg.).

Von dieser Versuchsreihe bot die Giemsa-Lösung die geringsten positiven Ergebnisse. Gekörnte Erythrozyten konnten nur sehr vereinzelt dargestellt werden, und waren dabei für den weniger Geübten schwer zu erkennen. Das Hämoglobin der Erythrozyten färbte sich zu stark mit, so daß der Kontrast zwischen Tüpfel und umgebender Substanz nicht stark genug in die Erscheinung trat.

Die Giemsa-Lösung mit Farbwechsel für Präparate im „dicken Tropfen" leistete insofern etwas mehr, als sich die Zahl der sichtbar gemachten Tüpfel erhöhte.

Eine bessere Darstellung haben wir in der Methylenblau-Färbung. Die Granula waren stärker gefärbt und dadurch leichter zu erkennen. Auch der Prozentsatz der gefärbten Tüpfel erhöhte sich gegenüber der Giemsafärbung, war aber dennoch nicht zufriedenstellend.

In der Färbung nach Manson konnten wir unter den hier angewandten Methoden die beste zur Sichtbarmachung der Punktierung feststellen. Die Tüpfelung der roten Blutzellen trat wesentlich stärker gegen die Umgebung hervor, weil einmal die Granula stärker gefärbt waren und dann die sie umgebende Substanz blasser erschien. Auch in der Zahl der dargestellten basophil getüpfelten Erythrozyten ergab diese Färbung die besten Resultate.

Die von Schwarz verbesserte Manson-Lösung mag wohl eine größere Haltbarkeit der Farblösung gewährleisten. Hinsichtlich der Darstellung der punktierten roten Blutkörperchen konnten wir jedoch keine Verbesserung beobachten. Die Blutausstriche färbten sich, anders als bei der einfachen Manson-Lösung, nicht intensiv blau, sondern unklar grün; auch war die Tüpfelung nicht mehr so deutlich zu erkennen. Bei unseren weiteren vergleichenden Untersuchungen haben wir uns deshalb allein auf die alte Manson-Lösung beschränkt.

Jetzt prüften wir Blutaustriche von Kaninchen und Meerschweinchen, die stark positiv waren, mit folgenden Fluorochromen auf punktierte Erythrozyten:

Thioflavin, Primulin, Berberinsulfat, Morin und Auramin. Die Lösungen wurden mit Aqu. dest. in einer Konzentration 1:1000 angesetzt. Wir änderten laufend die Einwirkungszeiten der Fluoro-

chrome, von einer Sekunde ansteigend bis zu einer Stunde. Nach dem Färben wurden die nicht fixierten Präparate unter fließendem Wasser gespült und dann zwischen Fließpapier getrocknet. Da im Fluoreszenzmikroskop nichts zu erkennen war, was an punktierte Erythrozyten erinnerte, gingen wir dazu über, die Ausstriche vorher in Methylalkohol verschieden lange zu fixieren. Auch bei diesen Versuchen erzielten wir keine positiven Ergebnisse. Trotz Zusätzen von Alkohol, Aluminiumsulfat, Alkohol mit Aluminiumsulfat, sowie Phenol zu den Fluoreszenzfarblösungen und Ansetzen der Fluorochrome mit alkoholischer Aluminiumsulfatlösung, unter Änderung der Konzentration, ist uns eine Elektivfärbung der punktierten Erythrozyten bei Bleierkrankung so nicht gelungen. Es waren wohl verschiedenfarbig leuchtende Zellen von verschiedener Größe im Fluoreszenzmikroskop zu erkennen, aber fluoreszierende Körnchen waren nicht vorhanden. Eine Vor- und Nachbehandlung aller bisher angeführten Färbungen mit der Giemsa-, Methylenblau-, und Manson-Färbung, ebenfalls unter Änderung der Konzentration und der Einwirkungszeiten, ergab das folgende bemerkenswerte Resultat.

Die Blutausstriche der Bleitiere zeigten mit alkohol. Aluminium-Morin-Lösung als Vorfärbung und Manson-Lösung als Nachfärbung bei der Untersuchung im Tageslichtmikroskop eine besonders gute Darstellung der punktierten Erythrozyten. Alle anderen Färbungen dagegen ließen die Blutzellen im Hellfeld entweder schlecht oder überhaupt nicht mehr erkennen. Im Fluoreszenzmikroskop war bei all diesen Farbkombinationen eine Fluoreszenz nicht zu beobachten.

Diese neue Methode wurde in der genannten Art angewandt und zunächst, wie gesagt, an Blutausstrichen von experimentell bleivergifteten Meerschweinchen und Kaninchen ausgeprobt. Nach dem Vorliegen einer einwandfreien Methode für den Tierversuch prüften wir nun diese neue Färbeweise an Blutausstrichen von einwandfrei bleikranken Menschen. Es ergaben sich in bezug auf Konzentration und Einwirkungszeit noch einige Änderungen, aber sonst wiesen die Versuche dieselben günstigen Ergebnisse auf.

Die von uns angewandte Technik der Färbung für Blutausstriche von Bleipatienten ist die folgende:

Eine Stunde Färben in alkoholischer Aluminium-Morin-Lösung, bestehend aus 95 Teilen einer 3prozentigen Aluminiumsulfatlösung und 5 Teilen einer 0,2prozentigen alkoholischen Morin-Lösung.

Abspülen unter fließendem Wasser und Trocknen zwischen Fließpapier.

Hierauf Nachfärbung mit der Manson-Lösung. Hierbei hat man auszugehen von der Manson-Stammlösung, bestehend aus 5,0 Borax in 100,0 kochendem Aqu. dest. gelöst, bei Zusatz von 2,0 Methylenblau offic. Höchst. Von dieser Stammlösung setzt man zum Färben

an 6 Tropfen auf 10 ccm Aqu. dest. und färbt nach der Stoppuhr 30 bis 40 Sekunden.

Danach wiederum Spülen unter fließendem Wasser und Trocknen zwischen Fließpapier.

Alle diese Vorschriften müssen aufs genaueste innegehalten werden, will man zu guten färberischen Ergebnissen kommen. Die basophile Substanz ist tief blau gefärbt, die sie umgehende Substanz der Erythrozyten dagegen erscheint fast weiß oder mattblau. Den Erythrozyten umgibt meist ein feiner blauer Ring. Die Körnelung tritt so scharf hervor, daß auch der Ungeübte sie leicht erkennen kann. Es kann hier und da aber auch vorkommen, daß nur die Körnelung hervortritt und die Konturen sämtlicher roten Blutkörperchen nicht mehr sichtbar sind. In diesem Fall ist zwar auch die basophile Körnelung gut dargestellt, doch fehlt die Übersicht über die im Beobachtungsfeld vorhandenen normalen roten Blutkörperchen. Dadurch wird die Auszählung der getüpfelten Erythrozyten erschwert. Auf Grund dieser Färbung ließen sich verschiedene Typen von pathologisch veränderten Erythrozyten unterscheiden:

Zellen mit ausgesprochen wabiger, netzartiger Struktur, Zellen mit nadelförmiger bis grobkörniger Struktur, und dann die deutlich abgesetzten punktierten Erythrozyten. Eine Unterscheidung zwischen polychromatischen und grob- und feingekörnten Erythrozyten für die Beurteilung einer Bleierkrankung erscheint uns nicht angebracht. Vielmehr weisen unsere Beobachtungen darauf hin, daß es sich nur um verschiedene Stadien ein und derselben Veränderung der Erythrozyten handelt, d. h. daß die getüpfelten roten Blutkörperchen aus den grobgekörnten entstehen, und diese wieder aus den polychromatischen. Auf Grund der Beobachtungen unserer Arbeit schließen wir uns der Auffassung Brückners an, daß der basophilen Punktierung als Strukturelement keine Sonderstellung gegenüber der Polychromasie eingeräumt werden darf. Außerdem lassen die verschiedenen Typen der pathologisch veränderten roten Blutkörperchen annehmen, daß die basophile Substanz aus dem Protoplasma stammt, das wahrscheinlich durch Bleieinwirkung pathologisch verändert wird, und kolloidchemisch betrachtet ausflockt.

Weitere Versuche mit den genannten Fluorochromen und Vorbehandlung des Blutausstriches verliefen ebenso ergebnislos wie die bisher erwähnten. Hierzu gehörte eine Vorbehandlung mit Chromsäure, Formalin, H_2O_2 und HCL, unter Nachfärben mit den Fluoreszenzfarbstoffen bei verschiedener Zeitdauer und verschiedener Konzentration. Die von Hagemann für Tuberkelbazillen und die von Keller für Diphtheriebazillen angegebenen Färbungen versagten ebenfalls.

Da bisher bei dem fluoreszenzmikroskopischen Nachweis der

basophilen Tüpfelung von uns keine positiven Ergebnisse erzielt waren, kamen wir zu folgender Überlegung:

Färben sich Erythrozytenkerne überhaupt mit Fluoreszenzfarbstoffen? Wie verhält sich angefärbtes rotes Knochenmark, das normalerweise kernhaltige Erythrozyten aufweist, zum Bleiausstrich? Wie reagiert ein mit Fluorochromen behandelter Blutausstrich vom gesunden Mesnchen, da ja normalerweise im menschlichen Blutbild keine kernhaltigen oder punktierten roten Blutzellen vorhanden sind?

Wir färbten deshalb außer den Blutausstrichen der Bleitiere solche vom Reisvogel, der normalerweise kernhaltige Erythrozyten besitzt, vom gesunden Menschenblut und vom roten Knochenmark (Brustmarkpunktat) zum Vergleich mit.

Diese neue Versuchsreihe wurde mit folgenden Fluorochromen durchgeführt: Primulin, Auramin, Berberinsulfat Morin, Brillantdianilgrün, Brillantchresylblau, Coriphosphin O, Chelidoniumextr., Fuchsin, Kongorot, Neutralrot, Thioflavin, Thiazolgelb, Aurophosphin, 3 R, Trypaflavin, Euchrysin 2 GNX, Rheonin A, Rosolsäure, Aminotherephthalsäure.

Alle diese Fluorochrome wurden in 3 verschiedenen Lösungen angesetzt: 1. Mit destilliertem Wasser in einer Konzentration 1:1000. 2. Mit Phenolzusatz: Fluoreszenzfarbstoff in einer Konzentration 1 : 1000 in Aqu. dest. und 2% Phenol. 3. als Aluminiumsulfatlösung: gleiche Teile einer 6prozentigen Aluminiumsulfatlösung mit einer 0,2 % Fluorochromlösung gemischt. Mit diesen 3 verschiedenen Fluorochromlösungen prüften wir das färberische Verhalten der Blutpräparate vom Reisvogel, Bleimeerschweinchen, gesunden Menschen und vom roten Knochenmark. Die Zeitdauer der Behandlung der Blutausstriche mit den verschiedenen Lösungen betrug eine Stunde. Diese Einwirkungszeit hatte sich bei unseren bisherigen Versuchen als günstig erwiesen. Nach der Färbung wurden die Präparate unter fließendem Wasser gespült und zwischen Fließpapier getrocknet. Die Betrachtung im Mikroskop erfolgte mit dem Objektiv 60 und den Okularen 5, 8, 10 und teilweise 15. Folgende Fluorochrome wurden mit dem Wood'schen Filter H (hell) und D (dunkel) betrachtet, um den Einfluß der verschiedenen Filter auf die Fluoreszenzfähigkeit der Präparate zu prüfen: Primulin, Auramin, Berberinsulfat, Morin, Brillantdianilgrün, Brillantchresylblau, Coriphosphin O, Chelidoniumextr., Fuchsin, Kongorot, Neutralrot, Thioflavin, Thiazolgelb. Wir kamen dabei zu der Feststellung, daß mit dem D-Filter weit bessere Fluoreszenzbilder erzielt wurden als mit dem H-Filter. Ebenfalls beobachteten wir bei dieser verschiedenen Betrachtungsweise eine Änderung der Fluoreszenzfarben. Die übrigen Fluoreszenzfarbstoffe wurden daraufhin nur noch mit dem D-Filter betrachtet. Auch bei diesen zahlreichen Versuchen gelang

es uns niemals, punktierte Erythrozyten bei Bleierkrankung im Fluoreszenzmikroskop darzustellen.

Vollkommen ungeeignet, auch zur Darstellung anderer Blutelemente, erwiesen sich Brillantchresylblau, Chelidoniumextr., Fuchsin, Kongorot, Neutralrot, Rosolsäure. Sie wurden daher in der beiliegenden Tabelle nicht berücksichtigt.

Eine gute Kernfärbung der kernhaltigen Erythrozyten des Reisvogels konnte mit den verschiedensten fluoreszierenden Farbstoffen erreicht werden. Am besten erwies sich die Berberinlösung mit Phenolzusatz und die Euchrysinlösung 2 GNX mit Aluminiumsulfatzusatz. Dann folgten als gute Kernfarbstoffe Primulin mit Aluminiumsulfat, die einfache Auraminlösung, Berberinsulfat mit Aluminiumsulfat, Morin mit Aluminiumsulfat, die einfache Coriphosphin-O-Lösung, Coriphosphin mit Aluminiumsulfat, die einfache Thioflavinlösung, Thioflavin mit Aluminiumsulfat, die einfache Euchrysinlösung 2 GNX, Euchrysin 3 R mit Aluminiumsulfat, Aminotherephthalsäure mit Aluminiumsulfat. Ziemlich gute Darstellung ergaben die einfache Primulinlösung, Morin mit Aluminiumsulfat, Aurophosphin mit Aluminiumsulfat, Trypaflavin mit Aluminiumsulfat, Euchrysin 3 R mit Phenol. Da eine nähere Beschreibung der Fluoreszenzerscheinungen hier unübersichtlich wirken würde, sehen wir an dieser Stelle davon ab und verweisen auf die Angaben der Tabelle.

Die Blutausstriche von gesundem Menschenblut zeigten, wie zu erwarten war, niemals eine Punktierung der Erythrozyten.

Sehr aufschlußreich für die Deutung der Herkunft der punktierten roten Blutzellen war die Tatsache, daß in der Serie der Knochenmarkpräparate die kernhaltigen Vorstufen der Erythrozyten mit der einfachen Primulinlösung und der Euchrysinlösung 2 GNX mit Aluminiumsulfat im Fluoreszenzmikroskop gut dargestellt werden konnten. Aus diesem Ergebnis und aus der guten Darstellung der kernhaltigen Vogelerythrozyten und der Beobachtung bei unserer neuen Kombination der Manson-Färbung mit alkohol. Aluminiummorin gewinnt die Ansicht von Grawitz, Pappenheim, Schilling, G. Seiffert und Engel immer mehr Wahrscheinlichkeit, daß die Herkunft der punktierten roten Blutkörperchen sich nicht vom Kern ableitet, sondern aus dem Protoplasma. Da aber die aus dem Protoplasma entstehende Punktierung der Erythrozyten auch nicht mit fluoreszierenden Farbstoffen dargestellt werden konnte, besteht die Möglichkeit, daß in den roten Blutzellen noch Blei in irgendeiner Form vorhanden sein muß, welches, wie alle Schwermetalle, fluoreszenzlöschend (Haitinger) wirkt.

Bei der Behandlung eines Blutpräparates vom Bleimeerschweinchen mit phenolhaltigem Berberinsulfat machten wir noch folgende Beobachtung: Während bei den meisten Färbungen die Erythrozyten nur schattenhaft erschienen, zeigten sie hier einen

stark goldgelb fluoreszierenden Rand. Diese Erscheinung erweckte den Eindruck, als ob die Erythrozyten von einer stärkeren Membran umgeben wären, die hier dargestellt werden konnte.

Als Nebenergebnisse gewannen wir einige gute Darstellungen der Leukozyten: 1. im Meerschweinchenpräparat mit folgenden Farblösungen: Primulin in allen drei Farblösungen, mit der einfachen Auraminlösung, Auramin mit Aluminiumsulfat, Berberin mit Phenol, Thioflavin mit Aluminiumsulfat, Phosphin 3 R mit Aluminiumsulfat. 2. Im Präparat vom gesunden Menschen mit Primulin in allen drei Farblösungen, Berberinsulfat mit Aluminiumsulfat, Thiazolgelb mit Phenol, Trypaflavin mit Phenol.

Zusammenfassung.

1. Es wurde eine neue Lösung zur Darstellung der punktierten Erythrozyten ausprobiert, die in einer Kombination von alkoholischer Aluminiummorinlösung mit Mansonlösung besteht, und die im Tageslichtmikroskop angewandt werden kann.

2. Es wurde gezeigt, daß punktierte Erythrozyten mit Fluoreszenzfarbstoffen färberisch nicht nachweisbar sind.

3. Es wurde durch die Untersuchungen die Vermutung bestärkt, daß die punktierten Erythrozyten bei Bleierkrankungen aus dem Protoplasma und nicht aus der Kernsubstanz stammen.

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse

	Reisvogel	Blei-Meerschweinchen	Gesunder Mensch	Rotes Knochenmark
Primulin	Erythrozytenkern graublau	Leukozyten gelblich leuchtend mit punktiertem Protoplasma dargestellt Kern bräunlich	Leukozyten sehr gut goldgelb sichtbar, das Plasma ist gekörnt, Kern braun gefärbt	Punktierte goldgelbe und grüngelbe Zellen von verschiedener Größe mit geringer bis starker Körnelung.
Primulin + Phenol	Erythrozyten grünlich, Kern dunkler fluoreszierend	Leukozyten stark gelb leuchtend mit punktiertem Plasma	Leukozyten sehr gut goldgelb sichtbar. Plasma punktiert. Kern braun gefärbt. Erythrozyt als Schatten zu erkennen.	Stark gelb und matter gelb-grün leuchtende Zellen in verschiedener Größe.
Primulin + Al-sulfat	Erythrozytenkerne bläulich leuchtend	F. H. Erythrozyten bläulich leuchtend. F. D. Erythrozyten gelblich leuchtend. Leukozyten mattgelblich und stärker fluoreszierend	Leukozyten hellgelb bis weißlich leuchtend, mit dunklerem Kern. Erythrozyt als Schatten sichtbar.	Stark gelb und matter gelb-grün leuchtende Zellen von verschiedener Größe. Schatten mit netzartiger Struktur.
Auramin.	Erythrozytenkern stark grünl. fluoreszierend	Leukozyten bläulich grün Kleine grünliche Zellen (Lymphozyten). Dazwischen in Gruppen angeordnete kleine bläuliche Zellen. Erythrozyt als Schatten sichtbar.	Schwach bläulich rosa fluoreszierende Leukozyten. Dazwischen kleine bläuliche Zellansammlungen. Erythrozyten schattenhaft.	Grüngelbe kleine, größere und große Zellen, dazwischen mattgrün umrandete mittelgroße Zellen.
+ Phenol	Erythrozyten aufgequollen. Kern gelblich. Erythrozyten als Schatten sichtbar.	Leukozyten matt weißlich. Erythrozyten als Schatten sichtbar.	Leukozyten matt-bläulich.	Gelbe bis goldgelbe verschwommene Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern blaß-bläulich leuchtend.	Matt bläulich fluoreszierende Zellen von verschiedener Größe.	Leukozyten bläulich. Kleine bläuliche Zellen. Erythrozyten als Schatten sichtbar.	Kleine und größere grüngelbe Zellen. Leukozyten als Schatten. Erythrozyten teilweise grün umrandet.

F. H. = Hellfilter, F. D. = Dunkelfilter.

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse

	Reisvogel	Blei-Meerschweinchen	Gesunder Mensch	Rotes Knochenmark
Berberinsulfat	—	Leukozyten silbern zu erkennen. Erythrozyten teilweise mit grüngelbem Rand umgeben.	Leukozyten blaßblau.	Vereinzelte matt dunkelgelbe Zellen.
+ Phenol	Erythrozytenkern gelbgrün leuchtend, aber etwas verzerrt.	Erythrozyten mit leuchtendem, goldgelbem Rand. Leukozyten gelblich.	—	Gelb leuchtende große und kleine Zellen, teilweise gelappt und gekörnt.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkerne stark grün fluoreszierend.	F. H. Leukozyten weißlich. F. D. Leukozyten gelb leuchtend. Erythrozyten teilweise mit grünem Rand umgeben.	Nur Leukozytenkerne grüngelb fluoreszierend zu erkennen.	Grüngelb leuchtende große und kleine Zellen. Die mittelgroßen zeigen teilweise Körnelung.
Morin	—	—	—	Grüngelb fluoreszierende große und kleine Zellen mit Kern. Dazwischen schattenhaft mittelgroße Zellen.
+ Phenol	—	—	—	Grüngelb fluoreszierende große und kleine Zellen mit Kern. Dazwischen grüngelb punktierte Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern hellgrün leuchtend mit dunklem Rand.	Leukozyten bläulichweiß. Erythrozyten als Schatten. Dazwischen kl. punktierte bläuliche Zellen.	F. H. Leukozyten bläulich. F. D. Leukozyten grünlich. Erythrozyten als Schatten. Dazwischen kl. punktierte Zellen.	Große und mittelgroße grüngelb fluoresz. Zellen. Dazwischen schattenhafte Zellen.
Brillantdianilgrün	—	—	—	—
+ Phenol	—	Leukozyten grünlich mit dunklerem Kern.	Leukozyten als blaue Schatten.	—

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse

	Reisvogel	Blei-Meerschweinchen	Gesunder Mensch	Rotes Knochenmark
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern blaß-blau.	Leukozyten hellbläulich. Erythrozyten blaß sichtbar.	Leukozyten stark hellblau fluoresz.	Stark bläulich leuchtende Zellen von verschiedener Größe.
Coriphosphin	Erythrozytenkerne rötlichgold leuchtend.	Kleine und größere blaßrötliche Zellen.	—	Vereinzelt rötliche Zellen.
+ Phenol	Erythrozytenkerne rötlich leuchtend.	Leukozyten blaßrötlich sichtbar.	Leukozyten mattrosa mit etwas kräftigerer Kernfärbung.	Kleinere und größere rötliche Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkerne rotgold fluoreszierend.	Rötliche goldene Leukozyten mit etwas kräftigerem Kern. Kleinere goldgelbe Zellen.	Matt gelbliche Leukozyten mit rotbräunlichem Kern.	Rötliche goldene Zellen von verschiedener Größe.
Chelidonium-extr.	—	—	—	—
+ Phenol	—	—	—	Blaßbläulich schimmernde Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern angedeutet.	—	—	Etwas grünlich schattenhafte Zellen.
Thioflavin	F. H. Erythrozytenkern rotgold leuchtend. F. D. Kern grüngelb-gold leuchtend.	—	Leukozyten mattgrün mit braunem Kern. Grüngelb leuchtende kl. Zellen. Erythrozyten als Schatten.	Gelb bis gelbgold leuchtende große und kleine Zellen, die Kernfärbung und teilweise Punktierung erkennen lassen. Daneben gelbumrandete mittelgroße Zellen.
+ Phenol	Erythrozyten als Schatten gelblich umrandet, sichtbar.	Erythrozyten als Schatten, gelblich umrandet, sichtbar.	Leukozyten grünlich bis mattblau fluoreszierend mit rosa bis bräunlichem Kern. Kleine blau leuchtende Zellen. Erythrozyten als Schatten.	Kleine gelb leuchtende Zellen, größere bläuliche und große gelbe Zellen, die gelbbraune Kernfärbung haben. Daneben mittelgroße Zellen, gelb umrandet.
Thiazolgelb	—	—	—	—

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse:

	Reisvogel	Blei-Meerschweinchen	Gesunder Mensch	Rotes Knochenmark
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern gut grüngelb leuchtend.	Leukozyten hellblau bis blaugrün zu erkennen.	Leukozyten ganz mattblau zu erkennen.	Gelb bis gelbgrün leuchtende Zellen von verschiedener Größe mit schwacher Kernfärbung. Schattenhaft mittelgroße, gelbumrandete Zellen.
+ Phenol	—	—	Leukozyten gut gelb leuchtend. Erythrozyten als Schatten.	—
+ Al-sulfat	—	—	—	Mittelgroße und große gelb leuchtende Zellen mit Kern. Daneben grünl. Ringzellen.
Aurophosphin	—	Schwach graugrün, einzelne bläuliche Zellen.	—	Viele goldgelbe Zellen mit grünem Rand.
+ Phenol	Erythrozytenkern schwach golden leuchtend.	Stark rotgolden leuchtende Zellen.	Leukozyten rötlich golden.	Viele goldgelbe Zellen, teils heller, teils dunkler leuchtend.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkerne golden leuchtend.	Leukozyten blaßgolden	—	Viele goldgelbe Zellen, heller und dunkler leuchtend. Einzelne mit blauem Rand.
Phosphin 3 R	—	—	—	Braungoldene Zellen mit großem grünlichen Rand.
+ Phenol	—	—	Leukozyten weißbläulich.	—
+ Al-sulfat	—	Leukozyten sehr gut goldgelb dargestellt.	Erythrozyten schwach goldfarben.	Viele dunkelgoldene Zellen mit hellem Rand.
Trypaflavin	Erythrozytenkern blaßrosa leuchtend.	Grau gefärbte Zellen.	—	Blaßrosa-goldene Zellen, teilweise mit Rand.
+ Phenol	Grüngelb leuchtende Erythrozyten mit blaßrosa Kern.	Blaß grau-rosa Zellen.	Leukozyten stark golden leuchtend.	Viele blaß-rotgoldene Zellen.

Übersicht über die Untersuchungsergebnisse

	Reisvogel	Blei-Meerschweinchen	Gesunder Mensch	Rotes Knochenmark
+ Al-sulfat	Erythrozyten hellgelb, Kern rosa leuchtend.	Blaß grau-rosa Zellen.	—	Zahlreiche goldene Zellen.
Euchrysin 2 GNX	Erythrozytenkerne rotgolden.	—	Leukozyten ganz schwach goldfarben.	Viele rotgoldene Zellen.
+ Phenol	Erythrozytenkerne stark golden leuchtend.	Leukozyten hellrosa.	Blaßrosa Zellen.	Zahlreiche rotgoldene Zellen.
+ Al-sul-	Erythrozytenkern stark golden leuchtend.	Leukozyten blaß gold-rosa	Leukozyten gelbrosa.	Zahlreiche stark goldene Zellen.
fat Euchrysin 3 R	Erythrozytenkern rötlich fluoresz.	—	—	Viele rotgoldene Zellen.
+ Phenol	Erythrozytenkern stark rotgolden.	Leukozyten blaß rot-golden	Leukozyten blaß rot-golden.	Zahlreiche intensiv rotgold leuchtende Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkerne hellrot leuchtend	—	Leukozyten blaß grünlich.	Viele,verschieden große goldene Zellen.
Rheonin A	—	—	—	Zahlreiche verwaschene rotgoldene Zellen.
+ Phenol	Erythrozytenkern blaßgrau.	Leukozyten blaß rot-golden.	Blaßgraue Zellen.	Viele goldene Zellen.
+ Al-sulfat	Erythrozytenkern blaß grau	—	—	Bräunliche Zellen mit hellem Rand.
Aminolterephtalsäure	Erythrozytenkern hellblau	Leukozyten blaßbläulich	—	Zahlreiche blaßbläuliche bis grünliche Zellen.
+ Phenol	—	Leukozyten blaßbläulich	—	—
+ Al-sulfat	Erythrozytenkerne grünlichblau leuchtend.	Blaßbläuliche Zellen.	Blaßbläuliche Zellen.	Viele blaßbläuliche bis grünliche Zellen.

Schrifttum

Böttrich: Die Bedeutung der basophil getüpfelten Erythrozyten, speziell für die Begutachtung von Bleikrankheiten. Zbl. Gewerbehyg. N.F. 9, 1932.

Brückner und Spatz: Über die Beurteilung des roten Blutbildes bei der Bleivergiftung unter Berücksichtigung verschiedener Darstellungsmethoden der polychromaten und basophil punktierten Erythrozyten. Arch. f. Hyg. Bd. 97, 1926.

Gerlach: Zur Virus-Fluoreszenz-Mikroskopie. Wien. Klin. Wchschrft. 1937, Nr. 46.

Grawitz: Über die körnige Degeneration der roten Blutkörperchen. Dtsch. med. Wchschrft. 1889, Nr. 36.

— Die klinische Bedeutung und experimentelle Erzeugung körniger Degenerationen in den roten Blutkörperchen. Berlin. klin. Wchschrft. 1900, Nr. 9. 1901, Nr. 24 und 46. 1905, Nr. 19.

Haak: Vereinheitlichung der Blutuntersuchungsverfahren bei Bleigefährdeten. Diss. Rostock. 1929.

Hagemann: Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis von Leprabakterien im Nasenschleim und im Blut. Dtsch. med. Wchschrft. 1937, Nr. 13.

— Virus-Fluoreszenzmikroskopie. Eine neue Sichtbarmachung filtrierbarer Viruskörperchen. Münch. med. Wchschrft. 1937, Nr. 20.

— Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über Virus und andere Mikroben. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 1937, Bd. 140.

— Fluoreszenzfärbung der Tuberkelbazillen mit Auramin. Münch. med. Wchschrft. 1938, Nr. 28.

Haitinger: Die Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie. Akad. Verlagsges. Leipzig 1938.

Herrmann: Der Nachweis der Tuberkelbazillen mit dem Fluoreszenzmikroskop. Dtsch. med. Wchschrft. 1937, Nr. 38.

Keller: Der Nachweis von Diphtheriebazillen mit einem neuen Fluoreszenzmikroskop. Wien. med. Wchschrft. 1939, Nr. 12.

Koch: Zur Frage der hämatologischen Diagnosestellung bei Bleieinwirkung. Arch. f. Hyg. 1924, Bd. 94.

Küster: Untersuchungen mit dem Fluoreszenzmikroskop. Dtsch. med. Wchschrft. 1939, Nr. 3.

Legge und Goadby: Bleivergiftung und Bleiaufnahme. Springer Berlin 1921.

Lehmann: Tüpfelzellen und gewerbliche Bleivergiftung. Zbl. d. Hyg. 1931, Bd. 23.

— Neue tierexperimentelle Untersuchungen über den Wert der basophil granulierten Erythrozyten für die Frühdiagnose der Bleivergiftung. Arch. f. Hyg. Bd. 96.

— Über das Vorkommen basophil granulierter Erythrozyten im strömenden Blut Thüringer Zementarbeiter. Arch. f. Hyg. Bd. 99, 1928.

Mertensskötter: Gewerbestaub und basophile Tüpfelung der roten Blutkörperchen. Zbl. f. Gewerbehyg. N.F. 10, 1933.

Naegeli: Über die Entstehung der basophil gekörnten roten Blutkörperchen. Münch. med. Wchschrft. 1904, Nr. 5.
Pappenheim: Atlas der menschlichen Blutzellen. Jena 1905—1912.
— Grundriß der hämatologischen Diagnostik. Leipzig 1918.
Schilling: Das Blutbild. 1938.
Schmidt: Zur Frage der Entstehung der basophil gekörnten Körner in den roten Blutkörperchen. Dtsch. med. Wchschrft. 1902, Bd. 44.
— Experimentelle Beiträge zur Pathologie des Blutes. Jena 1902.
— Ein Beitrag zur Frage der Blutregeneration. Münch. med. Wchschrft. 1903, Nr. 13.
— Über Bleivergiftung und ihre Erkennung. Arch. f. Hyg. Bd. 63, 1907.
Schretzenmayr: Über den Mechanismus der Bleivergiftung. Dtsch. med. Wchschrft. 1933, II.
Schwarz und Hefke: Fehlerquellen bei der Frühdiagnose der Bleiwirkung. Dtsch. med. Wchschrft. 1923, Nr. 7.
Serson: Regelmäßige Untersuchungen von Bleiarbeitern. Arch. f. Gewerbepath. 4, 1933.
Teleky: Klinik und Begutachtung der Bleivergiftung. Schweiz. med. Wchschrft. 1935, I.

Lebenslauf:

Ich wurde am 10. 5. 1913 als Tochter des Fuhrherrn Bernhard Lemke zu Berlin geboren. Vom 6. bis 10. Lebensjahr besuchte ich in Berlin die 53. Gemeindeschule. Anschließend ging ich auf die Kleist-Oberrealschule über, die ich 1933 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im Herbst 1933 begann ich das Medizinstudium an der Universität Berlin. Hier legte ich 1936 das Physikum ab. Meine Approbation erfolgte am 5. September 1939 in Berlin.